

**ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЕМОЛИМФЫ
PLANORBARIUS CORNEUS (GASTROPODA, PULMONATA)
ПРИ ИНВАЗИИ ПАРТЕНИТАМИ COTYLURUS CORNUTUS
(TREMATODA, STRIGEIDAE)**

А. П. Стадниченко, Л. Д. Иваненко, Л. Г. Бургомистренко

Житомирский пединститут

При инвазии *Planorbarius corneus* спороцистами *Cotylurus cornutus* наблюдаются статистически достоверные изменения плотности гемолимфы и концентрации водородных ионов в гемолимфе моллюсков-хозяев. К числу константных свойств, присущих гемолимфе *P. corneus*, относятся содержание в ней гемоглобина и обеспеченность им организма этих животных.

P. corneus — типичные бентические организмы, являющиеся обычным компонентом онфауны. Лишенные возможности питаться твердой пищей они собирают с поверхности дна мягкий детрит. Будучи приуроченными к биотопам илистых водоемов, иногда даже к «черным илам», эти моллюски значительную часть своей жизни проводят в условиях неблагоприятного кислородного режима. К пленке поверхностного натяжения воды *P. corneus* поднимаются лишь тогда, когда резерв кислорода в их легком сокращается до 4 (Павловский, Лепнева, 1948) и даже до 2.8% (Jones, 1961). Находясь в условиях дефицита кислорода, *P. corneus* обеспечивают потребность в этом газе частично наличием адаптивной жабры, но, главным образом, за счет гемоглобина, содержащегося в их гемолимфе, впервые обнаруженного у этих моллюсков Ланкестером (Lankester, 1872). Гемоглобин гемолимфы *P. corneus* является веществом, определяющим всю энергетику их организма. Основная его функция — это транспорт кислорода к тканям и углекислого газа — от них. Гемолимфа *P. corneus* является отчасти средой обитания для некоторых из паразитирующих у этого моллюска трематод, хотя обычно их партениты локализуются в гепатопанкреасе. В гемолимфе пребывают и церкарии, где они находятся с момента выхода из спороцист или редий до выхода из хозяина.

Нас интересовало, какие изменения претерпевают показатели гомеостаза внутренней среды организма этих животных под воздействием паразитарного фактора. Учитывались содержание гемоглобина и обеспеченность им организма моллюсков, а также ряд физических свойств гемолимфы (плотность, вязкость, концентрация водородных ионов).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

М а т е р и а л: 619 экз. *P. corneus*.

М е с т о и в р е м я о б н а р у ж е н и я: собран в мае—июне 1968 г., в мае—декабре 1977 г. и в январе 1978 г. в пруду с. Ставчаны Львовской обл. и в ряде водоемов Житомирской обл.: на р. Роставице вблизи Ружина, в р. Ирпень у с. Королевки, в р. Мыке в окрестностях с. Городище и в рукаве р. Тетерев у с. Заречаны.

Моллюски были спонтанно инвазированы партенитами *Cotylurus cornutus* Rud. Гемолимфу получали непосредственно перед исследованием по описанной ранее методике. Плотность гемолимфы устанавливали по Филлипсу и Ван Слайку, вязкость — вискозиметром типа ВК-4, концентрацию водородных ионов выявляли применением индикаторной бумаги «Рифан», содержание белка — рефрактометром ИРФ-22. Концентрацию гемоглобина определяли солянокисло-гематиновым методом по Сали (применяя при этом втрое меньшую степень разведения гемолимфы соляной кислотой, что учитывалось при вычислении значений его концентрации, и добиваясь тщательной стандартизации условий, чтобы снизить величину ошибки). Часть анализов выполнена гемо-метром Цейса по методике Алякринской (1970). Электрофорез белков гемолимфы в агар-агаровом геле проводили по методике Илкова и Николова. Приняты следующие критерии надежности сдвига (Шефтель, Сова, 1976): 1. для «жестких» показателей (V. до 10%) — 90%; 2. для пластичных (V. от 1 до 50%) — 95%; 3. для малоинформативных (V. более 50%) — 99%. К показателям первой группы отнесены активная реакция гемолимфы и содержание в ней гемоглобина.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Свежеполученная гемолимфа *P. corneus* — жидкость ярко-красного цвета, слабо темнеющая на воздухе, с течением времени не коагулирующая. Применение электрофореза в агар-агаровом геле позволило выявить

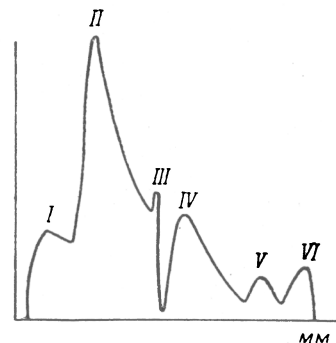
Процентное соотношение белковых фракций гемолимфы *Planorbarius corneus*
(по результатам 16 анализов)

Белковая фракция	lim	$\bar{x} \pm m$	σ	V.
I	7.32—12.90	9.29—0.68	1.66	18.09
II	54.03—64.46	58.93—1.69	4.14	7.03
III	3.23—5.71	3.88—0.47	1.16	29.89
IV	11.57—21.96	18.28—1.49	3.65	19.98
V	2.44—4.95	3.83—0.41	1.00	26.11
VI	4.05—5.80	5.12—0.28	0.68	13.28

в гемолимфе *P. corneus* 6 белковых фракций (см. таблицу); 3 из них обнаруживали подвижность в отрицательном электрическом поле и столько же — в положительном (см. рисунок). В гемолимфе близкородственного вида *Australorbis glabratus* дискэлектрофорезом установлено 9—12 белковых фракций и выделено с бензидиновым реагентом 4 фракции ф гемоглобина (Michelson, 1966).

У исследованных нами незараженных моллюсков вязкость гемолимфы составляла в среднем 1.35 ± 0.06 единиц (по воде), изменяясь в пределах от 1.1 до 2.1. Плотность гемолимфы варьировала от 1.005 до 1.011 г/мл,

Денситометрическая кривая белков гемолимфы *Planorbarius corneus*.



составляя в среднем 1.008 ± 0.0004 г/мл, мало отличаясь от значений этого показателя у животных подмосковных популяций (1.006 ± 0.0003 и 1.007 ± 0.0005 г/мл, исследованных Алякринской (1970)) и почти полностью совпадая с таковыми моллюсков прибалтийской популяции (1.008 ± 0.0003 г/мл, изученной ею же). Следовательно, у незараженных *P. corneus*

названный показатель является весьма стабильным и не подвержен ни популяционной, ни сезонной изменчивости.¹

Активная реакция гемолимфы *P. corneus* колебалась от 6.0 до 9.0. Полученные нами по этому показателю данные несколько отличаются от сведений, имеющих в литературе. Известны следующие ее значения: 7.4 (Macela, Seliskar, 1925), 7.4—8.1 (Алякринская, 1970), 8.0—8.4 (Алякринская, 1972), из чего можно заключить, что ей присуща лишь слабощелочная реакция. Наши данные позволяют несколько расширить представление об ее изменчивости: активная реакция гемолимфы варьирует от слабокислой до слабощелочной и подвержена сезонной изменчивости. Так, если весной активная реакция гемолимфы животных городищенской популяции была слабокислой ($pH=6.67 \pm 0.07$), то к осени она изменялась до слабощелочной ($pH=7.18 \pm 0.07$, степень достоверности различий больше 99.9%).

Концентрация гемоглобина в гемолимфе *P. corneus* колебалась от 0.19 до 2.00 г%, т. е. максимальное ее значение превышало минимальное в 10.5 раза. В близких этим пределах — от 0.3 до 2.1 г% — варьировал показатель у моллюсков, исследованных Борден (Borden, 1931), а также Алякринской (1970). Алякринской (1970, 1976) установлено, что содержание гемоглобина в гемолимфе этих моллюсков, обитающих в водоемах с разным гидрологическим и гидрохимическим режимом, неодинаково. Это нашло подтверждение в наших исследованиях: у моллюсков из проточных водоемов, характеризующихся благоприятным кислородным режимом, концентрация гемоглобина в гемолимфе относительно невысока, в то время как у *P. corneus* из пруда (Ружин, пруд на р. Роставице) с илистым грунтом, с большим содержанием в нем неокисленного органического вещества и дефицитом кислорода в придонных слоях воды средняя концентрация его более чем в 3 раза выше и составляет 2.17 г%. Нами отмечены сезонные колебания в содержании гемоглобина, концентрация которого у *P. corneus* возрастает от весны к осени. Например, у животных из р. Мыка в весеннее время этот показатель составлял (Стадниченко, Иваненко, 1978) 0.664 ± 0.043 , а осенью — 0.77 ± 0.03 г% (степень достоверности различий 98.4%).

Обеспеченность гемоглобином *P. corneus* весьма высока. По нашим данным, у животных исследованных популяций она варьировала от 3.4 ± 0.1 до 4.57 ± 0.18 г/кг, т. е. заметно превышала значения этого показателя, приведенные Алякринской (1970) для моллюсков подмосковных и прибалтийских популяций. То же касается и обеспеченности гемоглобином мягких частей тела. В чем причина столь заметных различий, пока остается неясным.

При инвазии *P. corneus* партенитами *C. cornutus* наблюдалось изменение некоторых физико-химических свойств гемолимфы. Так, уменьшалась плотность гемолимфы, которая составляла у зараженных моллюсков 1.005 ± 0.001 г/мл при амплитуде колебания от 1.004 до 1.0065 г/мл (степень достоверности сдвига 95%). Наряду с этим у инвазированных моллюсков изменялось содержание общего белка в гемолимфе: в норме этот показатель составлял 1.2%, в то время как при инвазии (в случае локализации партенит в гепатопанкреасе) — всего лишь 0.96%. Можно полагать, что уменьшение плотности гемолимфы обусловлено гипопроотеинемией, вызванной торможением биосинтеза белков в инвазированном гепатопанкреасе.

Нами также установлено, что при инвазии наблюдается сдвиг активной реакции гемолимфы в кислую сторону. Статистически достоверные различия между зараженными и незараженными моллюсками по этому признаку отмечены лишь в осеннее время. В этот период у инвазированных *P. corneus* активная реакция гемолимфы составляла 7.00 ± 0.007 против 7.18 ± 0.007 — у незараженных (критерий надежности сдвига 92.8%). Известно, что в процессе клеточного обмена постоянно высвобождаются и поступают в гемолимфу вещества кислотного характера, т. е. постоянно имеется тенденция к сдвигу реакции последней в кислую сторону. Известно также,

¹ Сборы Алякринской (1970) относятся к августу—октябрю.

что отрицательному воздействию партенит трематод моллюски противопоставляют повышение уровня общего метаболизма, что подтверждается усилением мобилизации универсального энергетического субстрата — гликогена, повышением потребления кислорода, а также интенсификацией теплоотдачи. Следовательно, при инвазии неизбежно усиливается поступление в гемолимфу *P. corneus* веществ кислого характера.

Весной резервы организма моллюсков направлены на оптимальное осуществление процесса размножения. В этот весьма ответственный в жизни животных период мобилируются все защитно-компенсаторные механизмы организма, направленные на поддержание гомеостаза его внутренней среды. Этим обеспечивается такая регуляция концентрации водородных ионов, при которой активная реакция гемолимфы находится на весьма стабильном уровне. С окончанием размножения и связанным с этим понижением уровня метаболизма у инвазированных *P. corneus*, вероятно, исчерпываются компенсаторно-приспособительные возможности организма и нарушается гомеостаз, что проявляется, в частности, в «подкислении» гемолимфы.

Нам не удалось обнаружить обусловленных инвазией статистически достоверных сдвигов в концентрации гемоглобина в гемолимфе и в обеспеченности им *P. corneus*. Незначительная вариабельность этих показателей связана, на наш взгляд, с высокой биологической значимостью гемоглобина, в связи с чем концентрация его во внутренней среде организма инвазированных моллюсков поддерживается гомеостатическими системами на стабильном уровне. Мы полагаем, что это возможно лишь в облигатных хозяино-паразитных системах, в которых в процессе длительной совместной эволюции выработалась определенная совместимость паразита и хозяина. Последняя, однако, отнюдь не является абсолютной и нарушается как под воздействием факторов абиотической среды, так и в зависимости от физиологического статуса организма моллюска-хозяина. Например, у некоторых особей *P. corneus* ружинской популяции при высокой интенсивности инвазии и в условиях дефицита кислорода концентрация гемоглобина в гемолимфе возрастала до 3.2 г%, тогда как лишь у отдельных незараженных моллюсков в этом водоеме она составляла 2.6 г%.

Литература

- А л я к р и н с к а я И. О. 1970. Количественная характеристика гемолимфы и гемоглобина роговой катушки *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). — Зоол. журн., 49 (3) : 349—354.
- А л я к р и н с к а я И. О. 1972. О буферных свойствах гемолимфы некоторых моллюсков. — Зоол. журн., 41 (2) : 189—196.
- А л я к р и н с к а я И. О. 1976. Гемоглобины и гемоцианины некоторых беспозвоночных в связи с экологией. Автореф. канд. дис. М. : 1—33.
- П а в л о в с к и й Е. Н., Л е п н е в а С. Г. 1948. Очерки из жизни пресноводных животных. «Советская наука». М. : 3—458.
- С т а д н и ч е н к о А. П., И в а н е н к о Л. Д. 1978. О воздействии партенит трематод на некоторые физико-химические свойства гемолимфы *Planorbis corneus*. — I Всесоюз. съезд паразитологов. — Тез. докл., Полтава : 96—97.
- Ш е ф т е л ь В. О., С о в а Р. Е. 1976. Критерий надежности как функция биологической значимости и вариабельности признака. — В кн.: Применение математических методов оценки и прогнозирования реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и организме. Матер. 2-го Всесоюз. симп., Киев : 37—39.
- B o r d e n M. A. 1931. A study of the respiration and of the function of haemoglobin in *Planorbis corneus* and *Arenicola marina*. — J. Marine Biol. Assoc. U. K., 17 : 709—738.
- J o n e s J. D. 1961. Aspects of respiration in *Planorbis corneus* and *Limnaea stagnalis*. — Comp. Bioch. and Physiol., 4 (1) : 1—29.
- L a n k e s t e r E. K. 1872. A contribution to the knowledge of haemoglobin. — Proc. Roy. Soc., 21 : 70—81.
- M a c e l a J., S e l i s k a r A. 1925. The influence of temperature on the equilibrium between oxygen and haemoglobin of various forms of life. — J. Physiol. London, 60 : 428—442.
- M i c h e l s o n E. N. 1966. Characterization of the haemolymph antigens of *Australorbis glabratus* by disc electrophoresis and immunoelectrophoresis. — Ann. Trop. Med. and Parasitol., 60 (3) : 280—287.

CHANGES IN SOME PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF HAEMOLYMPH
OF PLANORBARIUS CORNEUS (GASTROPODA, PULMONATA)
AT THE INFECTION WITH PARTHENITES OF COTYLURUS CORNUTUS
(TREMATODA)

A. P. Stadnychenko, L. D. Ivanenko, L. G. Burgomistrenko

S U M M A R Y

The infection of *Planorbarius corneus* L. with sporocysts of *Cotylurus cornutus* Rud. is accompanied by hypoproteinemia, decrease in the density of haemolymph and by the shift in the reaction of the inner medium of the mollusk's organism to the acid side. A concentration of haemoglobin and its contents in mollusks do not change at the infection.
